

تهیه کننده: حسین پیری

پروتئین های پلازما

صدها پروتئین مختلف در پلاسمای خون حضور دارند که مجموعاً بنام Plasma Proteins معروفند. غلظت این پروتئین ها حاصل تعادل بین سنتز (Anabolism) و کاتابولیسم (Catabolism) می باشد. این پروتئین ها شامل: پروتئینهای فاز حاد (Acute Phase Proteins) یا APPs پروتئین های ناقل، فیبرینوژن و فاکتورهای انعقادی دیگر، اجزای کمپلمان، ایمونوگلوبولینها (Ig)، مهارکننده های آنزیمی و... می باشد. سنتز اکثر این پروتئین ها در کبد صورت می گیرد و به درون جریان خون وارد می گردند و همچنین تخریب (کاتابولیزه شدن) این پروتئین ها در کبد صورت می گیرد.

این پروتئین ها اعمال بسیار متنوعی دارند که از آن جمله می توان به عمل انتقال مواد و ترکیبات مختلف در خون، برقراری فشار انکوتیک، عمل تامپونی، عمل دفاعی، واکنشهای انعقادی و فیبرینولیز و اعمال متفرقه اختصاصی دیگر اشاره نمود. حرکت پروتئین ها به خارج از عروق نه تنها به وسیله ی انتشار غیرفعال که بوسیله انتقال فعال و پنیوسیتوز و آگروسیتوز نیز صورت می گیرد.

پروتئین ها در جریان الکتریکی در محیطهای پایه نظیر ژل آگارز، استات سلولز و... و حرکت کرده و برحسب خصوصیات فیزیکی و میزان و نوع بار الکتریکی به طرف آند یا کاتد حرکت می نمایند. در صورت استفاده از محیط اسیدی گروه آمین ($-NH_2$) اسیدهای آمینه یونیزه شده و بعلت وجود بار الکتریکی مثبت به طرف کاتد حرکت می کنند. در محیط های قلیایی عامل کربوکسیل یونیزه شده ملکولهای حامل بار منفی به طرف آند حرکت می کنند. در محیط استات سلولز در pH=8/6 پروتئینهای حامل بار الکتریکی زیاد با سرعت بیشتر و پروتئینهای حامل بار الکتریکی کم با سرعتی کمتر به سمت قطب مثبت حرکت کرده و تفکیک آنها را بصورت باندهای مختلف: **Albumine**, **Prealbumine**, α_1 , α_2 , β (β_1 , β_2), γ میسر می سازند. پس از اتمام الکتروفورز، نوار مزبور را در محلول رنگ آمیزی و سپس در فیکساتور (Fixator) قرار داده، پس از شستشو با اسید استیک رقیق بوسیله دستگاه دانسیتومتر غلظت هر یک از اجزا که در ژل به صورت باندهایی ظاهر شده اند اندازه گیری و طرح مزبور با طرح (یا الگوی) طبیعی مورد مقایسه قرار می گیرد. تفسیر الکتروفورز پروتئینهای سرم که با استفاده از الگوهای خاص صورت میگیرد ویژگیهایی را در ارتباط با بیماریهای مختلف (سیروز، مالتیپل میلوما، سندرم تفروتیک و...) نشان می دهد که از نظر تفسیر شرایط بالینی از اهمیت خاصی برخوردار می

باشد و برای بدست آوردن نتایج دقیقتر از روشهای ایمونولوژیک (مانند: **Enzyme Linked Immunosorbent**

Assay یا **ELISA**) می توان استفاده نمود.

مقدار پروتئین تام سرم 6-8 gr/dl می باشد که از این مقدار 3/5-5/5 gr/dl مربوط به آلبومین می باشد و مقدار گلوبولین ها بین 2-3/5 gr/dl می باشد. از جمله پروتئین هایی که در دسته α_1 -گلوبولینها قرار دارد: α_1 -اسید گلیکوپروتئین (AAG) ، α_1 -آنتی ترپسین (AAT) و α_1 -فیتوپروتئین (AFP) می باشد. از دسته α_2 -گلوبولینها می توان به α_2 -ماکروگلوبولین (AMG) ، سرولولپلاسمین (Cp) و هاپتوگلوبین (Hp) اشاره نمود. از دسته β_1 : ترانسفرین TRF (سیدروفیلین) و فاکتور کمپلمان C4 و از گروه β_2 میتوان به β_2 -میکروگلوبولین (BMG) و C3 اشاره نمود. از جمله پروتئینهایی که در ناحیه γ ظاهر میشوند: انواع مختلف γ -گلوبولین ها (آنتی بادیها) از قبیل IgG, IgM و ... و همچنین پروتئین واکنشگر C یا CRP را می توان نام برد. همچنین در ناحیه پره آلبومین پروتئینهایی مانند : پروتئین باند شونده به رتینول (RBP) و ترانس تایرتین (TTR) را می توان نام برد. غلظت تمام یا بعضی از پروتئینهای مذکور در شرایط پاتولوژیکی مختلف ممکن است تغییر نماید. معمولترین تغییرات در غلظت پروتئینها در حالات بیماری که عموماً به نام پاسخ فاز حاد (APR) یا Acute Phase Response معروف هستند دیده میشود که یک پاسخ غیراختصاصی در حالت التهابی (مانند: عفونت ، بیماری های ایمنی و ...) و آسیب بافتی (مانند : تروما ، جراحی ، انفارکتوس میوکارد، تومورها و ...) میباشد. پروتئینهایی که متأثر از این پاسخ (پاسخ فاز حاد) هستند معروف به پروتئینهای فاز حاد (APP) یا Acute Phase Protein میباشند. غلظت بعضی از آنها در پاسخ به APR افزایش می یابد که به نام *Positive APPs* (پروتئینهای فاز حاد مثبت) معروف هستند. از جمله پروتئینهایی که در این دسته جای میگیرند می توان از: α_1 -اسید گلیکوپروتئین (AAG) ، α_1 -آنتی ترپسین (AAT) ، سرولولپلاسمین (Cp) و هاپتوگلوبین (Hp) ، C4 ، C3 و CRP نام برد. غلظت گروه دیگری از پروتئینها در پاسخ به APR کاهش میابد که به نام *Negative APPs* (پروتئینهای فاز حاد منفی) معروفند. مانند : TTR ، آلبومین و ترانسفرین (TRF).

آلبومین

یک پروتئین گلبولی کوچک ، با وزن ملکولی 66 KDa می باشد. پروتئین عمده پلاسما محسوب می گردد و بیشتر از نیمی از پلاسما را تشکیل می دهد. به همین علل این پروتئین جزو پروتئین عمده و اصلی در مایعات خارج عروقی بدن از قبیل مایع بینابینی، ادرار و مایع آمنیوتیک میباشد تقریباً 60% آلبومین تام بدن در فضاهای خارج عروقی حضور دارد. این ترکیب فاقد زنجیره جانبی کربوهیدراتی میباشد ولی به میزان زیاد در آب محلول می باشد و این حلالیت به علت بار خالص منفی زیادی است که در pH فیزیولوژیکی در سطح آن وجود دارد.

بیوشیمی و عملکرد آلبومین

افزایش میزان آلبومین در سلولهای پارانشیم کبدی سنتز می‌گردد و در مواردی مانند سندرم نفروتیک ممکن است میزان تولید آن تا 300 درصد یا بیشتر از آن، از حد معمول (طبیعی) آن صورت گیرد. کنترل میزان سنتز آلبومین توسط فشار اسمزی کلئیدی (Colloidal Osmotic Pressure) و نیز توسط میزان دریافت پروتئین صورت می‌گیرد. نیمه عمر پلاسمایی آلبومین 20-15 روز است. از اعمال اصلی آلبومین حفظ فشار اسمزی در فضاهای عروقی و خارج عروقی می‌باشد که تعادل مداومی بین آن دو ایجاد می‌نماید. آلبومین همچنین به بسیاری از ترکیبات باند شده و آنها را انتقال می‌دهد که عمدتاً عبارتند از: اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acids)، فسفولیپیدها (PL)، یونهای فلزی، اسیدهای آمینه، هورمون‌ها، بیلی‌روبین و...

اهمیت بالینی

افزایش میزان آلبومین تنها در حالتی مانند دهیدراتاسیون حاد (Acute dehydration) و بستن طولانی مدت تورنیکه (گارو) و... مشاهده می‌گردد و دارای ارزش بالینی زیادی نمی‌باشد، اما کاهش آن عمدتاً حائز اهمیت بوده و در شرایط زیر دیده می‌شود:

آنال‌بومینمی (Analbuminemia): افرادی که این نقص ژنتیکی نادر را دارا هستند، سطح پلاسمایی

آلبومین آنها کمتر از 0.5 gr/l می‌باشد اما اگر آدمی هم در این افراد وجود داشته باشد خفیف می‌باشد.

التهاب (Inflammation): التهاب حاد و مزمن از رایجترین علل هیپوآلبومینمی می‌باشد که این امر منتج از

افزایش مصرف آن توسط سلولها، کاهش سنتز آن و ورود آن به درون فضای خارج عروقی می‌باشد.

بیماری کبدی (Hepatic disease): کاهش آلبومین در اکثر موارد بیماری سلول کبدی، ناشی از افزایش

سطح ایمونوگلوبولینها، خروج آن از عروق به فضای خارج عروقی، مهار مستقیم سنتز آلبومین به وسیله توکسینها و الکل می‌باشد.

دفع ادراری (Urinary loss): گلومرول کلیوی به عنوان یک غربال ملکولی عمل می‌کند و مواد را با

توجه به شعاع (اندازه) ملکولی آنها عبور میدهد که اندازه آنها ارتباط معکوس با میزان دفع آنها دارد. با توجه به کوچک بودن نسبی آلبومین، مقادیر قابل توجهی از آن به درون توبولها فیلتره می‌گردد. به ازای هر گرم کراتنین 20 mg آلبومین در ادرار طبیعی وجود دارد. دفع بیشتر از این مقدار نشان‌دهنده افزایش میزان فیلتراسیون و وجود آسیب توبولی می‌باشد. هر چند

افزایش میزان فیلتراسیون در **تمرینات ورزشی** و در **تب** نیز ممکن است صورت گیرد بنابراین آلبومین ادراری باید تحت شرایط کنترل شده و به صورت تکراری سنجش گردد و مشخص گردد که آیا این افزایش به علل بالینی می باشد یا خیر. به استثنای حالت آنالومینمی ارثی، پایین ترین سطح آلبومین پلاسمایی در افراد مبتلا به سندرم نفروتیک دیده میشود.

اتلاف از طریق دستگاه گوارش (Gastrointestinal loss): بیماری التهابی دستگاه گوارش و انتروپاتی های از دست دهنده پروتئین، با اتلاف آلبومین همراه می باشد.

سوء تغذیه ی پروتئین (Malnutrition): توجه به میزان آلبومین سرم می تواند در تعیین و ارزیابی وضعیت تغذیه ای پروتئینی مفید باشد هرچند در اغلب موارد به ویژه در کشور های توسعه یافته کاهش میزان آلبومین به APR (واکنش فاز حاد) نسبت داده می شود.

α_1 - اسید گلیکوپروتئین (AAG) :

به نام **اوروسموکوئید** نیز معروف بوده و در کبد سنتز می شود. بخش عمده (45%) ساختار آن را کربو هیدرات (اسید سیالیک 12%) تشکیل میدهد. در APR افزایش و در سندرم نفروتیک کاهش می یابد (به دلیل وزن ملکولی پایین).

α_1 - آنتی ترپسین (AAT) :

از دسته Serpin ها یا مهارکننده های پروتئیناز دارای Ser در جایگاه فعالشان می باشد. در کبد سنتز می گردند و مهمترین مهارکننده الاستاز (آنزیم تجزیه کننده الاستین که به عروق و برنش در شش خاصیت ارتجاعی می بخشد) لکوسیته می باشد. **فقدان یا کاهش آن باعث از بین رفتن خاصیت ارتجاعی برنشا و ایجاد آمفیزم می گردد.** جرم ملکولی آن 52 KDa است. پس در ناهنجاریهای از دست دهنده پروتئین مقدار آن کاهش می یابد. در APR افزایش آن دیده می شود.

α_1 - فیتوپروتئین (AFP) :

آنالوگی از آلبومین بوده و تقریباً 4% کربو هیدرات دارد و در **دوران زندگی جنینی به عنوان پروتئین سرمی غالب** محسوب میگردد. افزایش آن در مرگ جنینی، خونریزی های جنینی - مادری و کارسینومای سلول کبدی

دیده می‌شود. کاهش آن در زنان حامله‌ای که دارای جنین مبتلا به سندرم داون (تری‌زومی 21) و یا تری‌زومی 18 هستند دیده می‌شود.

α_2 - ماکروگلوبولین (AMG) :

مهارکننده پروتئیناز پلاسمایی محسوب شده و در کبد سنتز می‌گردد. وزن آن 725 kDa بوده و به همین علت در سندرم نفروتیک دفع آن صورت نمی‌گیرد و از طرف دیگر سنتز آن به همراه بسیاری از پروتئینهای دیگر برای جبران پروتئین از دست رفته صورت می‌گیرد.

سرولو پلاسمین (Cp) :

یک گلوبولین حاوی 95% مس تام پلاسما میباشد. در APR افزایش می‌یابد. در بیماری ویلسون و منکه کاهش آن دیده میشود، نیز در اثر از دست رفتن خون و یا در سندرمهای اتلاف کننده پروتئین از کلیه و دستگاه گوارش مقدار آن کاهش می‌یابد. این پروتئین دارای خاصیت فرااکسیدازی می‌باشد.

β_2 - میکروگلوبولین (BMG) :

بدون کربوهیدرات بوده و به عنوان بخشی از آنتی‌ژنهای لکوسیت انسانی (HLAs) محسوب می‌گردد. به دلیل اندازه کوچک (11/8 kDa) از غشای گلومرولی عبور می‌نماید اما به طور طبیعی تقریباً به طور کامل (99%) بازجذب و کاتابولیزه می‌گردد (در توبول پروگزیمال کلیه). ارزش بالینی آن در تست کردن عملکرد توبول کلیوی به ویژه در افراد پذیرنده کلیه برای بررسی رد پیوند آلوگرافت (که به صورت کاهش عملکرد توبولی ظاهر میگردد) میباشد.

هاپتوگلوبین (Hp) :

یک α_2 -گلوبولین میباشد و در کبد سنتز میشود. این گلوبولین سریعاً به هموگلوبینهای آزاد شده از اریتروسیتها و RBCهایی که لیز شده‌اند متصل می‌گردد و باعث جلوگیری از دفع Fe, Hb می‌گردد و کمپکس تشکیل شده- Hp (Hb) توسط سلولهای کوپفر کبدی برداشته میشوند. کاهش Hp اندیکاتور مهم و حساس برای همولیز محسوب میگردد. (به طور طبیعی، تقریباً 1% RBC از گردش خون برداشته میشوند یا به طور روزانه در داخل عروق خونی تخریب می‌گردند. افزایش تخریب RBC ها تنها تا 2% در روز، پلاسما را به طور کامل و در غیاب یک تحریک مانند التهاب و ... تخلیه خواهد کرد).

ترانس تایرتین (TTR) :

که نام سابق آن **پره آلبومین** میباشد. پروتئین ناقل T_3 , T_4 میباشد. افزایش آن در بعضی از تومورها مانند لنفوم هوچکین (Hodgkin Lymphoma) و کاهش آن در بیماری کبدی و سوء تغذیه پروتئینی دیده میشود. اغلب از کاهش آن برای شناسایی وضعیت تغذیه پروتئینی استفاده میگردد.

پروتئین باند شونده به رتینول (RBP) :

این پروتئین در انتقال رتینول (ویتامین A) نقش دارد. کمپلکس آن با TTR باعث جلوگیری از فیلتره شدن آن و همچنین پایدار شدن تعامل بین رتینول و RBP می گردد و بعد از جدا شدن از TTR بوسیله کلیه ها از گردش خون حذف می گردد. RBP در آسیب توبول پروگزیمال کلیوی افزایش و در APR و بیماریهای کبدی و سوء تغذیه کاهش می یابد.

پروتئین واکنشگر C (C-Reactive Protein) :

پروتئین متصل شونده به پلی ساکارید می باشد. ابتدا در سال 1930 مشخص گردید که این پروتئین به پلی ساکارید C در دیواره سلولی باکتری استرپتوکوکوس پنومونیه (*Streptococcus Pneumoniae*) متصل می گردد. سنتز آن در کبد صورت می گیرد و قادر به اتصال به ترکیباتی مانند: فسفریل کولین ، فسفاتیدیل کولین و پلی آنیونهای (مانند DNA و ...) علاوه بر پلی ساکارید موجود در دیواره باکتریها ، قارچها و پارازیت های پروتوزوایی می باشد. CRP باعث فعال نمودن مسیر کلاسیک کمپلمان و مشابه با آنتی بادیها باعث اپسونیزاسیون، فاگوسیتوز و لیز ارگانیسیمهای مهاجم می گردد. CRP به عنوان یکی از حساس ترین APP ها شناخته شده است و سطح آن در پلاسما در شرایطی مانند : آنفارکتوس میوکارد (MI) ، استرس، تروما، عفونت، التهاب، جراحی، تکثیر نئوپلاستیک و ... افزایش می یابد.

آنالیز پروتئین (PROTEIN ANALYSIS)

روش های متنوعی برای مطالعه و تعیین مقدار پروتئینها ابداع شده اند که این روش ها را میتوان در چهار گروه تقسیم بندی نمود:

- اندازه گیری مستقیم فیزیکی و شیمیایی (مانند متدهای: فتومتر مستقیم، بیوره، Dye-binding و ...)
- اندازه گیری پروتئین ها بعد از جدا کردن. مانند:

- جداسازی به روش الکتروفورز و سپس تعیین غلظت توسط دانسیتومتر

- جداسازی آلبومین از گلوبولینها، سپس تعیین غلظت آلبومین به روشهای شیمیایی مختلف

- اندازه گیری فعالیت بیولوژیکی پروتئینها (اندازه گیری فعالیت آنزیم ها)
- روشهای ایمونولوژیکی:

a- روش ایمونوالکتروفورز (Immunoelectrophoresis)

b- روش ایمونودیفیوژن (Immunodiffusion)

c- روش آنزیم ایمونو اسی (Enzyme Immunoassay)

d- روش رادیو ایمونو اسی (Radio Immunoassay)

الف- روش فتو متری مستقیم (Direct photometry):

از طول موجهای نور UV (Ultra Violet) میتوان برای سنجش میزان پروتئینها در یک نمونه میتوان استفاده نمود. معمولاً از طول موجهای 270-290 nm و 200-225 nm استفاده می گردد. جذب در 280 nm و در pH=8 عمدتاً به حلقه های آروماتیک مربوط به آمینو اسیدهای Tyr, Trp بستگی دارد. که در این حالت آمینو اسیدهای آزاد موجود در نمونه و نیز ترکیباتی مانند اسیداوریک و بیلی روبین به علت اینکه در چنین طول موجی دارای جذب هستند می توانند باعث تداخل گردند. جذب در 200-225 nm عمدتاً به وسیله باندهای پپتیدی صورت میگیرد به طوری که مقدار جذب باندهای پپتیدی در این محدوده طول موج، 10-30 برابر مقدار آن در 280 nm می باشد و تقریباً 70% میزان جذب در 205 nm مربوط به باندهای پپتیدی می باشد، نتیجه اینکه در چنین طول موجی تداخل حاصل از Tyr, Trp ناچیز می باشد. از جمله ترکیبات مهم دیگری که در محدوده طول موج UV دارای جذب می باشند اسیدهای نوکلئیک (N.A) می باشد. برای تعیین غلظت پروتئین تام در طول موجهای UV و نیز حذف تداخل مربوط به اسیدهای نوکلئیک از رابطه زیر می توان استفاده نمود:

$$C_{\text{protein}} (\text{mg/ml}) = 1.55 A_{280} - 0.76 A_{260}$$

ب- روش کجداال (Kjeldahl):

روش کجداال به عنوان یک روش مرجع در اندازه گیری پروتئین مطرح می باشد. از این متد جهت آنالیز محتوای نیتروژن (N) موجود در پروتئینها استفاده می گردد. ابتدا پروتئین ها تحت تاثیر اسیدیته محیط هضم می گردند و نیتروژن موجود در آنها به صورت یون آمونیوم (NH_4^+) آزاد می گردد. سپس غلظت یون آمونیوم آزاد شده به وسیله روشهایی مانند تیتراسیون و نسلریزاسیون تعیین می گردد. میزان آمونیاک به دست آمده در 25/6 ضرب می گردد و بدین ترتیب

مقدار عددی بدست آمده میزان پروتئین موجود در نمونه را نشان خواهد داد. از این متد به علت زمان بر بودن استفاده زیادی نمی گردد.

ترکیب قهوه ای رنگ \longrightarrow (معرف نسلر) $\text{NH}_3 + \text{KHgI}$

ج- روش فولین - سیوکالتو Folin-Ciocalteu (یا نوری):

در این روش از معرف فولین - سیوکالتو (فسفوتنگستیک - فسفومولیدیک اسید) استفاده می گردد که ترکیبات پروتئینی به علت داشتن ترکیبات آمینو اسیدی حاوی حلقه های آروماتیک (Trp, Tyr) باعث احیای این معرف و تولید رنگ آبی می گردد.

د- روش بیوره (Biuret):

در این روش از معرف بیوره (یون Cu^{++} در یک محلول قلیایی حاوی تارتارات سدیم پتاسیم) استفاده می گردد. تارتارات سدیم پتاسیم با یونهای Cu^{++} ایجاد کمپلکس نموده و از رسوب آن جلوگیری می نماید. ترکیباتی که حداقل دارای دو اتصال یا پیوند پپتیدی باشند (حداقل تری پپتید باشند) با یون مس در چنین محیطی کمپلکس بنفش رنگ می نمایند. شدت رنگ ایجاد شده با تعدادی پیوندهای پپتیدی نسبت مستقیم دارد. نام این آزمایش از نام ترکیب بیوره که با یون Cu^{++} کمپلکس میدهد گرفته شده است. رنگ حاصل به دلیل تولید پیوند کئوردینانس بین Cu^{++} و چهار نیتروژن (2 نیتروژن از هر پلی پپتید) بوجود می آید. رنگ تولید شده بوسیله تارتارات (یا سترات) پایدار می گردد. از سرم یا پلاسما می توان استفاده نمود، هرچند میزان پروتئین اندازه گیری شده در پلاسما نسبت به سرم مقداری بیشتر می باشد (به علت وجود فیبرینوژن در پلاسما) که این مقدار تقریباً $0.4 - 0.2 \text{ gr/dl}$ بیشتر از سرم است. پروتئین تام در دمای اتاق به مدت 1 هفته، در دمای یخچال (4°C) به مدت 1 ماه و در دمای -20°C به مدت 2 ماه در سرم یا پلاسما پایدار است. از سرم لیپمیک و همولیز نباید استفاده قرار گیرد.

متدهای DYE-BINDING

در متدهای Dye-binding از توانایی پروتئین ها در اتصال به رنگ هایی مانند کوماسی بریلیانت بلو (CBB) و برم-کرزول گرین (BCG) استفاده می گردد. یکی از محدودیتهای این روشها، تمایل نامساوی پروتئینها برای باندشدن به این رنگ ها می باشد بنابراین از این روش ها در سنجش پروتئین های توتال (به ویژه در سرم) استفاده زیادی نمی گردد. هر چند

در بعضی موارد از اختلاف زیاد رنگ پذیری پروتئین های مختلف و همچنین میزان غلظت آن ها می توان در جهت سنجش پروتئین تام بهره جست.

م- روش برادفورد (CBB) :

از آنجایی که بخش عمده ای از پروتئینهای مایع مغزی - نخاعی (CSF) را آلبومین تشکیل می دهد و همچنین پروتئین عمده موجود در ادرار عموماً آلبومین می باشد می توان از کوماسی بریلیانت بلو جهت سنجش پروتئین توتال استفاده نمود. در این روش در مقایسه با روش توریدیمتری (که در آن میزان انکسار نور حاصل از کدورت یا توریدیمتری پروتئین موجود نمونه مورد سنجش قرار می گیرد) به نمونه کمی (25 µl) نیاز می باشد.

ن- روش برم کرزول گرین (BCG):

از این روش جهت سنجش آلبومین استفاده می گردد. زیرا رنگ برم کرزول گرین (BCG) تمایل زیادی برای باند شدن با آلبومین دارد. استفاده از سرم توصیه می گردد زیرا در حضور فیبرینوژن و هپارین، مقدار آلبومین بیش از مقدار واقعی برآورد می گردد. همچنین اگر الگوی پروتئین سرم غیرطبیعی باشد باز احتمال اشتباه بیشتر می گردد. هر چند لیگاند هایی مانند داروها، متابولیت ها و ... به آلبومین باند می گردند ولی تداخلی در این واکنش ایجاد نمی نماید مگر اینکه غلظت آنها خیلی زیاد باشد.

از روش دیگری نیز می توان جهت سنجش آلبومین استفاده نمود. در تعیین افتراقی آلبومین و گلوبولین ها جهت به دست آوردن رسوب آنها استفاده می گردد. به علت اینکه پروتئین ها دارای وزن ملکولی بالاتری نسبت به آلبومین هستند، با افزودن سولفیت سدیم 28%، رسوب می نمایند و محلول رویی (Supernatant) حاوی آلبومین می باشد که با استفاده از روش بیوره مورد سنجش قرار می گیرد و شدت رنگ بنفش ایجاد شده مورد اندازه گیری قرار می گیرد. سپس می توان مقدار گلوبولین ها را نیز محاسبه نمود:

$$\text{غلظت آلبومین} - \text{غلظت پروتئین تام} = \text{غلظت گلوبولین ها}$$